Équipement enzymatique des champignons dégradant les aiguilles d'*Abies alba* Mill.

PAR

J.-M. SAVOIE et F. GOURBIÈRE
Université Claude-Bernard, Lyon-I,
Laboratoire d'Écologie Microbienne, Bât. n° 741,
43, *boulevard du* 11-*Novembre*-1918, 69622 *Villeurbanne Cedex* (*France*)

Synopsis: The screening of enzymatic abilities in a fungal succession allowed to establish some bonds between the biochemical partitioning of the resources and the spatial- and temporal-structure of this fungal community.

Keywords: Litter decomposition, Fungal succession, Ligninases, Polysaccharidases, Proteases.

INTRODUCTION

Les débris végétaux sont colonisés par des microflores fongiques qui assurent une part importante de leur décomposition. Ces microflores se succèdent au cours du temps, dans la phyllosphère puis dans la litière. Cette structure temporelle a été la première étudiée (HUDSON, 1968); elle conduit à la notion de groupes successionnels.

Plus récemment, des travaux ont mis en évidence la diversité spatiale de cette colonisation (BODDY & RAYNER, 1983; SHEARER & LANE, 1983; CHAMIER *et al.*, 1984). A un même moment de la succession, il est possible de rencontrer sur un même type de débris plusieurs espèces actives, soit en association, soit sur des unités spatiales différentes (SWIFT, 1976). Ceci revient à dire que des successions différentes (dites successions élémentaires) peuvent se développer sur les différentes

Reçu le 15/1/1988.
Accepté le 7/10/1988.

0025-1822/88/02 149-12/$ 3.20/© Gauthier-Villars

unités spatiales d'un même type de débris. Les groupes successionnels rassemblent alors les espèces pouvant se développer au même moment dans les différentes successions élémentaires.

Depuis GARRET (1951), on admet que la succession des espèces observée sur un débris végétal a un fondement nutritionnel et correspond à un partage des substrats entre les espèces successives. Les premières espèces utiliseraient les composés les plus dégradables (sucres, pectine, amidon, ...). Une fois ces substrats épuisés, ces premiers colonisateurs cèderaient la place aux espèces cellulolytiques, puis ligninolytiques. Ce schéma simplifié doit être développé pour tenir compte de la complexité chimique réelle des débris végétaux et de la diversité spatiale et temporelle des microflores.

Il s'agit en particulier de déterminer si le partage des substrats est le même dans les différentes successions élémentaires. En effet, la nécessité d'un partage des substrats ne devrait intervenir qu'à l'intérieur d'une succession élémentaire, pour des espèces se succédant réellement au même endroit. *A priori*, des successions différentes peuvent fonctionner avec des partages des substrats identiques. Selon que le partage sera identique ou différent dans les successions élémentaires, les groupes successionnels seront homogènes ou hétérogènes.

Une première approche de ces problèmes consiste à étudier, par des tests simples, l'équipement enzymatique de chacune des espèces en culture pure. Il est évident que ces résultats n'indiquent pas directement les substrats réellement utilisés *in situ* (dans une ressource complexe et en présence d'autres espèces), mais ils permettent une première approximation. Ce type d'études *in vitro* a été utilisé pour apprécier la diversité nutritionnelle potentielle de différents ensembles fongiques (KJØLLER & STRUWE, 1980; FLANAGAN, 1981; CARROLL & PETRINI, 1983; EGGER, 1986; KJØLLER & STRUWE, 1987) mais jamais, à notre connaissance, pour étudier celle d'une succession fongique complète.

Ce travail porte sur les microflores fongiques colonisant les aiguilles de sapin (*Abies alba* Mill.) dans la phyllosphère (aiguilles vivantes et sénescentes) puis dans les différentes couches de litière (L, F1, F2). Les mycoflores des aiguilles de conifères ont été souvent étudiées (KENDRICK & BURGES, 1962; MITCHELL & MILLAR, 1978; par exemple) et constituent un des meilleurs exemples de succession fongique. La structure temporelle de la mycoflore étudiée est bien connue (GOURBIÈRE, 1982, 1983, 1986), ce qui permettra de déterminer les liens entre l'équipement enzymatique de chaque espèce et sa place dans la succession globale. L'hypothèse du partage nutritionnel au niveau des successions élémentaires sera testée grâce aux quelques espèces pour lesquelles la structure spatiale a été établie (GOURBIÈRE, 1988).

I. – MATÉRIELS ET MÉTHODES

A) Champignons

Les souches utilisées proviennent de collections réalisées précédemment à partir de la phyllosphère et de la litière d'aiguilles d'*Abies alba* Mill. Nous avons choisi les principales espèces dont la présence et l'activité dans ou sur les aiguilles sont certaines (GOURBIÈRE, 1983, 1986, 1988) : *Tripospermum camelopardus* Ingold *et al.*, épiphyte externe sur aiguilles vivantes; – *Polyscytalum verrucosum* Sutton, saprophyte externe de la litière F1; – *Cytospora friesii* Sacc., *Dothichiza pityophila* (Cda.) Petr., *Rhizosphaera macrospora* Gourbière et Morelet, *R. oudemansii* Maublanc, *R. pini* (Cda.) Maublanc, saprophytes internes ([1]) des aiguilles sénescentes disparaissant après la chute; – *Nectria purtonii* (Grev.) Berk., interne, colonise les aiguilles en fin de sénescence et persiste quelque temps après la chute; – *Lophodermium piceae* (Fuckl.) Hohn., interne, apparaît à la sénescence mais reste actif dans la litière L; – *Ceuthospora pinastri* (Fr.) Hohn., *Thysanophora penicillioides* (Roum.) Kendrick, saprophytes internes des aiguilles de la litière L; – *Marasmius androsaceus* (L. : Fr.) Fr., *Unguicularia unguiculata* Hohn., saprophytes internes des aiguilles de la litière F1; – *Collybia butyracea* Fr. : Bull., *Collybia maculata* Fr. : A. S., agents de pourritures blanches dans la litière F2.

Les souches étaient maintenues sur PDA (Pomme de terre-glucose-agar).

B) Tests d'activités enzymatiques

Trois techniques différentes ont été utilisées :

(*a*) une technique de diffusion des enzymes en tubes gélosés (RAUTELA & COWLING, 1966);

(*b*) une technique de diffusion dans un milieu gélosé en boîtes de Petri (HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975, 1977), améliorée par le système de doubles couches proposé par EGGER (1986);

(*c*) une technique de liquéfaction de gels formés par les substrats (POCHON & TARDIEUX, 1962).

Dans les trois cas, le milieu de base contenait : 0,5 g d'extrait de levure Difco; 0,5 g de $(NH_4)_2SO_4$; 1 g de KH_2PO_4; 0,5 g de KCl; 0,2 g de $MgSO_4$, $7\,H_2O$; 0,1 g de $CaCl_2$, $2\,H_2O$; 15 g d'agar granulé (Meyrieux); 1 000 ml d'eau distillée. 1 g de D-glucose a été ajouté au milieu contenant du tween 20 comme substrat. Pour l'étude de la ligninolyse, le milieu initial a été complété par 3 g de cellobiose, 2 g de D-glucose et 1 g d'extrait de malt (EGGER, 1986).

Dans les systèmes de doubles couches, le niveau inférieur contenait un tampon phosphate 0,01 M pH 5, 3,5 % d'agar, et le substrat; ce dernier a été ajouté directement au milieu de base dans les autres tests. La liste suivante donne dans l'ordre, le nom du substrat, la concentration utilisée, le type de test réalisé, l'origine du substrat : amylose, 0,3 %, (*b*), Sigma. -amylopectine, 0,3 %, (*b*), Sigma. -xylane, 0,25 %, (*b*), Roth. -pectine de pomme de degré de méthylation de 72-75 %, 0,5 %, (*b*), Roth; et pectine de degré de méthylation 35-40 %, (*c*) Roth. -carboxymethylcellulose, 0,5 %, (*b*), Prolabo. -poudre de cellulose, 0,2 %, (*a*), Whatman CC 31. gélatine, 0,4 %, (*b*), Prolabo. -gélatine, 3 %, (*c*), Prolabo. -tween 20, 10 ml/l, (*a*), Prolabo. -lignosulfonate de sodium, 0,1 %, (*b*), Roth. -colophane, 0,6 %, (*b*), Prolabo (préparé selon la méthode de FAURE-RAYNAUD, 1975).

Après inoculation, les boîtes ont été placées à 20°C et à l'obscurité. Les lectures ont été réalisées après 2 à 9 semaines d'incubation (10 boîtes par substrat et par espèce). Les résultats ont été confirmés par des lectures indirectes : des cubes d'agar prélevés à la limite du mycelium ont été transplantés sur des boîtes contenant le substrat, le tampon, 0,1 % de gélose et 5 mM d'azide de sodium pour inhiber la croissance sans perturber les activités des enzymes présentes. Après 18 et 36 heures d'incubation à 28°C, les activités des enzymes ayant diffusé ont été révélées (SAVORY *et al.*, 1967) par les mêmes moyens que ceux utilisés

([1]) Par opposition aux espèces externes ne colonisant que la surface des aiguilles, les espèces internes colonisent l'intérieur des aiguilles, même si une partie de leur développement est externe.

pour les lectures initiales : précipitation ou coloration du substrat résiduel par un réactif ajouté sur le milieu gélosé (SUNDMAN & NÄSE, 1971; HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975; WILLIAMS, 1983; GOCHENAUR, 1984).

Les tubes ont été observés directement chaque semaine (POCHON & TARDIEU, 1962; RAUTELA & COWLING, 1966; RUINEN, 1966).

L'aptitude à produire des polyphénol-oxydases a été mise en évidence par repiquages sur PDA contenant soit 0,5% d'acide tannique, soit 0,5% d'acide gallique, soit 0,5% de gaïacol (Prolabo) à partir de précultures sur PDA ou PDA plus acide tannique. L'apparition d'un halo brun pour les deux premiers substrats ou rouge pour le troisième (il n'y a pas de croissance sur le gaïacol, les phénol-oxydases mises en évidence sont celles de l'inoculum) traduit une oxydation du substrat.

Les résultats ont été notés + quand il a été possible de détecter une activité et – quand aucune activité n'a été mise en évidence dans les conditions d'expérimentation choisies.

II. – RÉSULTATS

Les résultats des tests d'activités enzymatiques sont présentés dans le tableau I. Les trois substrats utilisés pour tester l'activité phénol-oxydasique donnent des réponses identiques, sauf pour *Unguicularia unguiculata* qui oxyde l'acide tannique et le gaïacol mais pas l'acide gallique et *Thysanophora penicillioïdes* qui n'oxyde que l'acide gallique. Les substrats cellulosiques solubles et insolubles sont hydrolysés par les mêmes champignons.

Au point de vue de la systématique, nous observons que des espèces appartenant au même genre présentent des profils d'activités identiques : *Collybia butyracea* et *C. maculata*; *Rhizosphaera oudemansii* et *R. macrospora*. Cependant la troisième espèce de *Rhizosphaera* (*R. pini*) se distingue des deux autres pour la protéolyse et la cellulolyse. Des champignons appartenant à des genres différents ont également les mêmes profils d'activité : *Dothichiza pityophila* est identique à *R. oudemansii* et *R. macrospora* (ces trois espèces sont contemporaines); *Marasmius androsaceus* a le même profil que les *Collybia* (ce sont trois basidiomycètes) et que *Lophodermium piceae*. Ce dernier groupe possède le plus grand nombre d'activités potentielles.

A l'opposé, deux espèces (*Tripospermum camelopardus*, *Polyscytalum verrucosum*) se distinguent nettement par le très petit nombre d'activités exprimées, et notamment l'absence de toute activité polysaccharidasique. Ces deux champignons sont des saprophytes superficiels, le premier colonisant la surface des aiguilles vivantes, le second celle des aiguilles de la litière F1. Ce sont les deux seuls représentants disponibles en culture de groupes plus larges : 3 espèces sont connues au niveau de la phyllosphère, 5 au minimum existent sur les aiguilles de la litière F1. Étant donné leur particularité, *T. camelopardus* et *P. verrucosum* ne seront plus prises en compte par la suite.

Les autres espèces, colonisant l'intérieur des aiguilles, possèdent toutes certaines enzymes : estérases, amylases, amylopectinases, xylanases. A l'opposé, la résine n'est dégradée que par une seule espèce : *Unguicularia unguiculata*. Seul *Nectria purtonii* ne possède pas de phénol-oxydases.

En dehors de ces deux cas particuliers, les espèces se différencient par la présence ou l'absence de cellulases, ligninases, protéases, pectinases.

TAB. I. – **Résultats des tests qualitatifs de production d'enzymes extracellulaires par les champignons d'une succession fongique décomposant les aiguilles de sapin.**

– Enzymes testées : Estérases (EST). Polyphénol- oxydases (PPO). Enzymes dégradatives de la résine (RES). Protéases (PRO). Amylases (AMY). Amylopectinases (AMP). Xylanases (XYL). Carboxymethylcellulases (CMC). Cellulases actives sur cellulose insoluble (CEL). Ligninases actives sur le lignosulfonate (L.S). Pectinases (PEC).

– La place des champignons dans la succession est définie par rapport à leur situation : externe (E), interne (I) et le type d'aiguilles colonisées : vivantes (V), sénescentes (S), litière L (L), litière F1 (F1), litière F2 (F2).

	EST	PRO	RES	PRO	AMY	AMP	XYL	CMC	CEL	L.S.	PEC
Tripospermun camelopardus (E), (V)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Dothichiza pityophila (I), (S)	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+
Rhizosphaera macrospora (I), (S)	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+
Rhizosphaera oudemansii (I), (S)	+	+	–	–	+	+	+	–	–	–	+
Rhizosphaera pini (I), (S)	+	+	–	+	+	+	+	–	–	–	–
Cytospora friesii (I), (S)	+	+	–	–	+	+	+	+	+	–	–
Lophodermium piceae (I), (SL)	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Nectria purtonii (I), (SL)	+	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–
Ceuthospora pinastri (I), (L)	+	+	–	+	+	+	+	–	–	–	–
Thysanophora penicillioïdes (I), (L)	+	+	–	+	+	+	+	–	–	–	+
Marasmius androsaceus (I), (F1)	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Unguicularia unguiculata (I), (F1)	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+
Polyscytalum verrucosum (E), (F1)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Collybia butyracea (I), (F2)	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Collybia maculata (I), (F2)	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+

Quatre espèces n'hydrolysent pas nettement la pectine. Il faut noter que les conditions utilisées (pH 5), assez proches des conditions naturelles, ne favorisent pas la détection de l'activité polygalacturonasique (HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975). Parmi ces quatre espèces pectinolytiques, deux se développent à la sénescence et sont absentes dans la litière (*Cytospora friesii*, *Rhizosphaera pini*), les deux autres colonisent la litière L (*Ceuthospora pinastri*, *Nectria purtonii*).

Les protéases, les ligninases et les cellulases permettent un classement des espèces (*fig.* 1). La présence d'une activité protéasique extracellulaire permet de séparer les champignons strictement liés à la sénescence (protéases –), de ceux actifs dans la litière (protéases +). Seul *R. pini* fait exception. Aucun champignon strictement lié à la sénescence n'est ligninase +, mais *Cytospora friesii* hydrolyse la cellulose. Dans la litière, les ligninolytiques sont également cellulolytiques : ce sont les basidiomycètes de la litière F1 et F2, plus *Lophodermium piceae*. Seul *Nectria purtonii*, dans la litière, dégrade la cellulose sans dégrader la lignine.

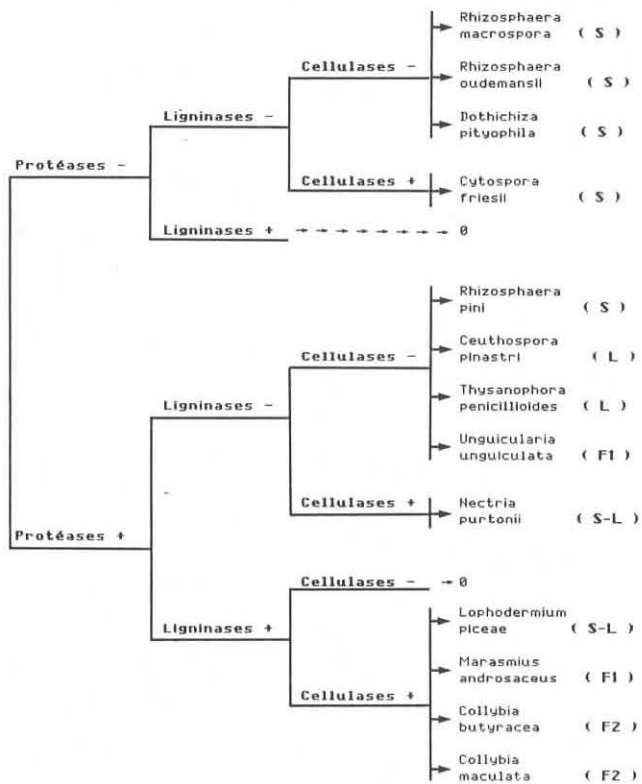

FIG. 1. — Classification des espèces d'une succession fongique colonisant l'intérieur des aiguilles de sapin en fonction de la production de trois enzymes extracellulaires : Protéases, Ligninases, Cellulases.

La place des champignons dans la succession est définie par le type d'aiguilles colonisées : sénescentes (S), litière L (L), litière F1 (F1), litière F2 (F2).

III. – DISCUSSION

A) Signification des tests

Les techniques de criblage utilisées ont l'avantage d'être pratiques et assez fiables grâce au système de doubles couches d'EGGER (1986) et aux lectures indirectes (SAVORY *et al.*, 1967) qui permettent d'éviter les désavantages soulignés par ADAMS & DEPLOEY (1978). Cependant, il est généralement reconnu qu'il est difficile de corréler l'activité *in vitro* à l'activité dans les systèmes naturels et que les résultats négatifs indiquent, soit que le champignon est incapable de dégrader le substrat, soit que les conditions expérimentales ne sont pas adaptées. Dans notre étude, les activités dégradatives *in situ* connues pour quelques champignons correspondent à

leurs activités exprimées *in vitro*. Par exemple, *Marasmius androsaceus* et *Lophodermium piceae* dégradent les parois cellulosiques (GOURBIÈRE *et al.*, 1986, 1987) en accord avec leurs équipements enzymatiques. L'absence de cellulase observée chez *Thysanophora penicillioïdes* correspond bien à la persistance des parois cellulaires des parenchymes colonisés par ce champignon (GOURBIÈRE & PEPIN, 1984). Mais certains résultats sont contradictoires. Si *Marasmius androsaceus* (ligninolytique *in vitro*) attaque effectivement les parois lignifiées *in situ*, *Lophodermium piceae* qui est ligninase+ pour le test de SUNDMAN & NÄSE (1971) ne dégrade pas la lignine *in situ* (GOURBIÈRE *et al.*, 1986). Ceci peut signifier, soit que les enzymes ne s'expriment pas dans les conditions naturelles, soit que le test n'est pas suffisamment spécifique. Ainsi, bien que KJØLLER & STRUWE (1987) suggèrent d'utiliser les potentialités de dégradation de substrats, obtenues par des tests qualitatifs, comme une mesure de la décomposition actuelle de la litière, cet outil ne permet qu'une approche préliminaire de l'importance des facteurs nutritionnels dans l'organisation des communautés fongiques saprophytes. Des études plus précises sur certains membres de ces communautés peuvent être nécessaires ainsi que des contrôles par d'autres méthodes, notamment des observations microscopiques de la dégradation *in situ*.

B) Aptitudes enzymatiques et groupes successionnels

L'aptitude à dégrader certains substrats ne semble pas liée à l'appartenance aux groupes successionnels.

L'amidon et le xylane peuvent être dégradés par la majorité des espèces présentes dans les communautés fongiques saprophytes étudiées par divers auteurs. En ce qui concerne la pectine, les observations sont divergentes (FLANAGAN, 1981; CARROLL & PETRINI, 1983; CHAMIER, 1985; EGGER, 1986; KJØLLER & STRUWE, 1987), et cette activité ne permet généralement pas une discrimination précise des saprophytes en liaison avec leur place dans les diverses communautés. Par contre, l'aptitude à dégrader les protéines, la lignine, et la cellulose, permettent d'établir une classification des espèces en groupes fonctionnels reliés en partie aux groupes successionnels (*fig.* 1).

L'activité protéolytique extracellulaire, bien que non générale, est assez fortement représentée dans les divers systèmes étudiés, mais il ne lui a généralement pas été attribué de rôle écologique. KJØLLER & STRUWE (1987) ont constaté une augmentation du pourcentage d'isolats protéolytiques au cours de la décomposition des feuilles de frêne. Dans notre étude, l'activité protéolytique telle que nous l'avons testée (induction par la protéine et levée de l'inhibition par carence relative en métabolite carboné de faible poids moléculaire (COHEN *et al.*, 1975)) sépare nettement les saprophytes limités à la sénescence qui ne sont pas protéolytiques de ceux actifs dans la litière (qu'ils apparaissent avant ou après la chute) qui sont protéolytiques. Cette distinction sur l'activité protéolytique peut être due aux différences qualitatives et quantitatives des stocks d'azote disponibles dans les aiguilles sénescentes et la litière.

Les aiguilles de sapin présentent une diminution de la quantité d'azote des aiguilles vivantes aux aiguilles sénescentes (1,35-1,64 % d'azote dans les aiguilles vivantes, 1,03 % dans les aiguilles tombées brunes, résultats non publiés). Les travaux de HORNER *et al.* (1987) sur des aiguilles de *Pseudotsuga menziesii* suggèrent

l'existence d'un lessivage, ou d'une restitution à l'arbre, de l'azote pendant la sénescence. Avant l'abscission des feuilles, il se produit une protéolyse (LESHEM *et al.*, 1986) conduisant à une diminution de la quantité de protéines et une augmentation parallèle des acides aminés dans les feuilles (MARTIN & THIMANN, 1972). A la chute des aiguilles ce stock d'acides aminés doit être en grande partie épuisé du fait du retour à l'arbre, du lessivage et de la consommation par la microflore présente dans les aiguilles sénescentes. Les espèces colonisant la litière doivent donc être protéolytiques pour assurer leur nutrition azotée. Cette activité doit être d'autant plus importante qu'à ce stade les protéines sont complexées par les composés phénoliques (HANDLEY, 1954).

A propos de la dégradation de la lignine et de la cellulose, les auteurs précédemment cités trouvent également que ces activités sont moins répandues que la protéolyse. Certains auteurs s'appuient sur la possession de ces deux activités pour établir des groupes de champignons qu'ils relient à certaines variabilités spatiales : colonisation de ressources différentes sur un même site (EGGER, 1986), colonisation de fractions de compositions histologiques différentes d'une même ressource (CARROLL & PETRINI, 1983). Au niveau temporel, ces activités sont de plus en plus fréquentes quand on passe de la phyllosphère au sol alors qu'elles ne révèlent pas de différence d'une année à l'autre (FLANAGAN, 1981) mais fluctuent selon la saison dans les litières de feuillus (KJØLLER & STRUWE, 1987). Cependant, dans tous les travaux, des exceptions plus ou moins nombreuses apparaissent.

Dans notre étude, le pouvoir discriminant de la cellulolyse et de la ligninolyse est également fortement marqué. Ainsi, la capacité de dégradation de la lignine n'apparaît que pour des champignons des litières F1 et F2, à l'exception de *Lophodermium piceae* (avec les réserves évoquées plus haut), et est toujours associée à la capacité de dégrader la cellulose. Ceci est en accord avec les modèles de cinétiques de dégradation des litières proposés par exemple par BERG (1986) et BERENDSE *et al.* (1987). Par contre, des saprophytes fréquemment présents au cours de la sénescence et dans la litière récente L sont cellulolytiques. De tels écarts par rapport au schéma général doivent être pris en compte dans le cadre de l'organisation des communautés fongiques à un niveau plus fin.

C) Aptitudes enzymatiques et successions élémentaires

Si l'on prend en compte les potentialités dégradatives des champignons des successions élémentaires liées à la sénescence et aux premiers stades de la litière (les différentes successions existant simultanément sur des unités d'espaces différentes) (GOURBIÈRE, 1988) on observe, contrairement à l'hypothèse du partage des substrats, que deux espèces s'excluant temporellement sur une même unité spatiale (*Rhizosphaera sp.* et *Thysanophora penicillioïdes* ou *Cytospora friesii* et *Nectria purtonii*) sont plus proches que deux espèces coexistant temporellement sur des unités d'espaces différentes (*R. sp.* et *C. friesii* ou *T. penicillioïdes* et *N. purtonii*). Les plus grandes différences concernent les espèces s'excluant à la fois spatialement et temporellement (*R. sp.* et *N. purtonii* ou *C. friesii* et *T. penicillioïdes*). *Lophodermium picea* qui occupe seul le temps correspondant aux deux successions élémentaires évoquées ci-dessus se caractérise par son large spectre d'activités.

A l'intérieur d'une même succession élémentaire, les différences entre les espèces successives proviennent en partie de la capacité d'oxydation des phénols mais

surtout de l'aptitude à la protéolyse extracellulaire. Il semble donc que l'azote soit le facteur limitant pour les premiers colonisateurs qui ne peuvent pas utiliser les protéines, alors que les substrats carbonés potentiellement utilisables persistent en quantités suffisantes. DEACON (1985) fournit des exemples de champignons thermophiles cellulolytiques qui sont capables d'utiliser l'azote inaccessible pour les premiers colonisateurs et augmentent ainsi la décomposition globale du substrat cellulosique.

IV. – CONCLUSION

Cette étude préliminaire de la diversité des équipements enzymatiques des espèces appartenant à une succession fongique complète nous a permis de déterminer les activités qui jouent un rôle important dans la répartition des espèces. Ainsi, la structure temporelle de la mycoflore étudiée nous apparait dépendante de la ligninolyse et de la protéolyse. La ligninolyse n'est présente que dans la litière assez âgée, conformément aux modèles de décomposition proposés par de nombreux auteurs; la protéolyse n'est réalisée que par les champignons internes des aiguilles de la litière et non par ceux liés strictement à la sénescence.

Alors que les possibilités de dégrader la lignine et les protéines sont des caractéristiques des groupes successionnels, les capacités de dégradation de la cellulose et de la pectine sont des caractéristiques des successions élémentaires. En effet la cellulolyse, et dans une moindre mesure la pectinolyse, nous sont apparues liées aux structures spatiales de la mycoflore selon une répartition contraire à l'hypothèse classique de partage des substrats. Deux espèces capables de dégrader la cellulose (*Cytospora friesii* et *Nectria purtonii*) se suivent et constituent une succession élémentaire différente de celle réalisée par les espèces n'attaquant pas ce substrat mais ayant les mêmes capacités dégradatives vis-à-vis des autres polysaccharides (*Rhizosphaera macrospora* et *Thysanophora penicillioïdes*).

Ainsi, les groupes successionnels ne sont pas homogènes et le partage des ressources n'est pas totalement identique dans les différentes successions élémentaires.

Il semble intéressant maintenant de compléter cette étude qualitative par des travaux *in vitro* plus précis sur la cellulolyse et la protéolyse, ainsi que des contrôles des activités réellement exprimées *in situ*, dans le cadre des successions élémentaires connues.

RÉSUMÉ

Afin d'étudier le rôle du partage nutritionnel des substrats entre espèces dans l'organisation des communautés fongiques, les possibilités d'hydrolyse de divers substrats complexes et la production de phénol-oxydases ont été testées pour quinze champignons saprophytes constituant une succession fongique décomposant les aiguilles d'*Abies alba* Mill.

Les champignons ne colonisant que la surface des aiguilles n'utilisent pas les polysaccharides. Par contre certaines enzymes, comme les amylases et xylanases, existent chez toutes les espèces se développant à l'intérieur des aiguilles.

Les champignons strictement liés aux aiguilles sénescentes se distinguent par l'incapacité à hydrolyser les protéines. Les espèces ligninolytiques n'apparaissent que dans le dernier stade de décomposition. Des espèces cellulolytiques sont présentes tout au long de la succession.

Summary

Enzyme patterns of the fungal species degrading *Abies alba* Mill. needles

In order to test the hypothesis on the role of biochemical partitioning of resources in the fungal communities' organization, fifteen saprophytic fungi of a fungal succession decomposing *Abies alba* Mill. needles were tested for their abilities to hydrolyse various complex substrates. Cultures were also assayed for the presence of phenol-oxidase enzymes.

The outer-fungi were unable to use polysaccharides.

Some enzymes such as amylases and xylanases were owned by all the species able to grow on the inner side of the needles.

The fungi occuring only in senescing needles were caracterized by the unability to hydrolyse proteins. The ligninolytic species were present only in the last stage of decomposition. Cellulolytic species were found all along of the succession.

Bibliographie

Adams (P. R.) & Deploey (J. J.), 1978. — Enzymes produced by thermophilic fungi. *Mycologia*, **70** : 906-910.

Berendse (F.), Berg (B.) & Bosatta (E.), 1987. — The effect of lignin and nitrogen on the decomposition in nutrient-poor ecosystems : a theoretical approach. *Can. J. Bot.*, **65** : 1116-1120.

Berg (B.), 1986. — Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils. A mini review. *Scand. J. For. Res.*, **1** : 359-369.

Boddy (L.) & Rayner (A. D. M.), 1983. — Ecological roles of basidiomycetes forming decay communities in attached oak branches. *New Phytol.*, **93** : 77-88.

Carroll (G.) & Petrini (O.), 1983. — Patterns of substrate utilization by some fungal endophytes from coniferous foliage. *Mycologia*, **75** : 53-63.

Chamier (A. C.), 1985. — Cell-wall-degrading enzymes of aquatic hyphomycetes: a review. *Bot. J. Linn. Soc.*, **91** : 67-81.

Chamier (A. C.), Dixon (P. A.) & Archer (S. A.), 1984. — The spatial distribution of fungi on decomposing alder leaves in a freshwater stream. *Œcologia* (Berl.), **64** : 92-103.

Cohen (B. L.), Morris (J. E.) & Drucker (H.), 1975. — Regulation of two extracellular proteases of *Neurospora crassa* by induction and by carbon- nitrogen - and sulfur-metabolite repression. *Arch. Biochem. Biophys.*, **169** : 325-330.

Deacon (J. W.), 1985. — Decomposition of filter paper cellulose by thermophilic fungi acting singly, in combination, and in sequence. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **85** : 663-669.

Egger (K. M.), 1986. — Substrate hydrolysis patterns of post-fire Ascomycetes (Pezizales). *Mycologia*, **78** : 771-780.

Faure-Raynaud (M.), 1975. — Recherches sur les bactéries rétinolytiques : répartition dans quelques sols de la région Rhône-Alpes et étude de la nutrition carbonée des souches isolées. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, **126** : 509-521.

Flanagan (P. W.), 1981. — Fungal taxa, physiological groups, and biomass: a comparison between ecosystems. *In: The fungal community, its organization and role in the ecosystem*, Wicklow (D. T.) & Carroll (G. C.) Eds., Dekker (M.), New York, pp. 569-594.

Garret (S. D.), 1951. — Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. *New Phytol.*, **50** : 149-166.

Gochenaur (S. E.), 1984. — Fungi of a long island oak-birch forest II. Population dynamics and hydrolase patterns for the soil *Penicillia*. *Mycologia*, **76** : 218-231.

Gourbière (F.), 1982. — Champignons des aiguilles de sapin (*Abies alba* Mill.) 8. Observation directe des microflores. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, **98** : 129-138.

Gourbière (F.), 1983. — Champignons des aiguilles de sapin (*Abies alba* Mill.) 9. Microflores internes. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, **99** : 203-215.

Gourbière (F.), 1986. — Méthode d'étude simultanée de la décomposition et des mycoflores des aiguilles de conifères (*Abies alba.*). *Soil Biol. Biochem.*, **18** : 155-160.

Gourbière (F.), 1988. — Structure spatio-temporelle de la mycoflore des premiers stades de décomposition des aiguilles d'*Abies alba.*, *Soil Biol. Biochem.*, **20** : 453-458.

Gourbière (F.) & Pepin (R.), 1984. — Microscopie de la mycoflore des aiguilles de sapin (*Abies alba* Mill.) 1. *Thysanophora penicillioïdes*. *Can. J. Bot.*, **62** : 1537-1544.

Gourbière (F.), Pepin (R.) & Bernillon (D.), 1986. — Microscopie de la mycoflore des aiguilles de sapin (*Abies alba*). 2. *Lophodermium piceae*. *Can. J. Bot.*, **64** : 102-107.

Gourbière (F.), Pepin (R.) & Bernillon (D.), 1987. — Microscopie de la mycoflore des aiguilles de sapin (*Abies alba*). 3. *Marasmius androsaceus*. *Can. J. Bot.*, **65** : 131-149.

Handley (W. R. C.), 1954. — Mull and mor formation in relation to forest soils. *Forest. Com. Bull. (Lond.)*, **23** : 115 p.

Hankin (L.) & Anagnostakis (S. L.), 1975. — The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*, **67** : 597-607.

Hankin (L.) & Anagnostakis (S. L.), 1977. — Solid media containing carboxymethylcellulose to detect C_x cellulase activity of micro-organisms. *J. Gen. Microbiol.*, **98** : 109-115.

Horner (J. D.), Cates (R. G.) & Gosz (J. R.), 1987. — Tannin, nitrogen, and cell wall composition of green vs. senescent Douglas-fir foliage. Within- and between-stand differences in stands of unequal density. *Œcologia (Berl.)*, **72** : 515-519.

Hudson (H. J.), 1968. — The ecology of fungi on plant remains above the soil. *New Phytol.*, **67** : 837-874.

Kendrick (W. B.) & Burges (A.), 1962. — Biological aspects of the decay of *Pinus sylvestris* leaf litter. *Nova Hedwigia*, **4** : 313-342.

Kjøller (A.) & Struwe (S.), 1980. — Microfungi of decomposing red alder leaves and their substrate utilization. *Soil Biol. Biochem.*, **12** : 425-431.

Kjøller (A.) & Struwe (S.), 1987. — Functional groups of microfungi on decomposing ash litter. *Pedobiologia*, **30** : 151-160.

Leshem (Y. Y.), Halevy (A. H.) & Frenkel (C.), 1986. — *Developments in crop science.* (8) *Processes and control of plant senescence.* Elsevier, Amsterdam.

Martin (C.) & Thimann (K. V.), 1972. — The role of protein synthesis in the senescence of leaves. The formation of proteases. *Plant Physiol.*, **49** : 64-71.

Mitchell (C. P.) & Millar (C. S.), 1978. — Mycofloral successions on Corsican pine needles colonized on the tree by three different fungi. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **71** : 303-317.

Pochon (J.) & Tardieux (P.), 1962. — *Techniques d'analyse en microbiologie du sol.* La Tourelle, Saint-Mandé.

Rautela (G. S.) & Cowling (E. B.), 1966. — Simple cultural test for relative cellulolytic ability of fungi. *Appl. Microbiol.*, **14** : 892-898.

RUINEN (J.), 1966. — The phyllosphere. IV. Cuticule decomposition by microorganisms in the phyllosphere. *Ann. Institut Pasteur*, **111** : 342-346.

SAVORY (J. G.), MATHER (B.), MAITLAND (C. C.) & SELBY (K.), 1967. — Assay of fungi for cellulolytic activity. *Chem. Ind. (Lond.)*, **4** : 153-154.

SHEARER (C. A.) & LANE (L. C.), 1983. — Comparison of three techniques for study of aquatic hyphomycetes communities. *Mycologia*, **75** : 498-508.

SUNDMAN (U.) & NÄSE (L.), 1971. — A simple plate-test for direct vizualization of biological lignin degradation. *Paper & Timber*, **53** : 67-71.

SWIFT (M. J.), 1976. — Species diversity and the structure of microbial communities in terrestrial habitats. *In*: *The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes*. ANDERSON (J. M.) & MACFAYDEN (A.) Eds., Blackwell Scientific publication, Oxford, pp. 185-222.

WILLIAMS (A. G.), 1983. — Staining reaction for the detection of hemicellulose degrading bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, **20** : 253-258.